

УДК 631.81.095.337

## ПРОЕКТИРОВАНИЕ АВТОМАТИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА БАЗЕ ГОТОВОЙ РОБОТИЗИРОВАННОЙ ПЛАТФОРМЫ И ОТЕЧЕСТВЕННЫХ РЕАГЕНТОВ

**С.В. Фролов, Т.А. Фролова**Тамбовский государственный технический университет  
г. Тамбов

В статье показана актуальность внедрения роботизированных станций для автоматизации лабораторных процессов. Поставлена задача проектировки типовой станции для автоматизации лабораторных процессов, проанализированы основные принципы проектировки дозирующей станции для автоматизации на базе готовой роботизированной платформы. Осуществлен подбор комплектующих и составных частей станции для выделения нуклеиновых кислот. Проанализирована задача автоматизации выделения нуклеиновых кислот при помощи отечественных реагентов.

**Ключевые слова:** роботизированная станция, автоматизация лабораторных процессов, полимерная цепная реакция.

В существующей ситуации, когда в России наблюдается стремление к повышению качества диагностики и здравоохранения в целом, автоматизация лабораторных исследований – это одна из приоритетных задач отрасли. Кроме того, в текущих экономических условиях импортозамещение и использование отечественной продукции в здравоохранении играет важную роль. Одной из актуальных задач дальнейшего развития медицинской техники является разработка комплексных решений, совмещающих в себе использование медицинских изделий и реагентов российского производства в комбинации приборами для диагностики, уже зарекомендовавшими себя на мировом рынке.

Значимость лабораторных исследований сегодня не может быть переоценена. Лабораторная медицина в настоящее время по количеству представляемой информации одна из самых объемных отраслей клинической медицины [1-8]. Практически все направления клинической медицины, а также дальнейшая постановка диагнозов и выбор тактики лечения основываются на результатах лабораторных анализов и невозможны сегодня без качественной лабораторной диагностики. Согласно данным ВОЗ: 1. Удельный вес лабораторных исследований составляет 75-90 % от общего числа различных видов исследований, проводимых больному в лечебных учреждениях; 2. В 60-70 % клинических слу-

чаев правильный диагноз пациенту врачи устанавливают на основании данных результатов лабораторных исследований; 3. Более 70 % врачебных решений принимается на основании полученных результатов лабораторных исследований; 4. В 65 % случаев результаты лабораторных исследований, выполненных по неотложным показаниям, приводят к коренному изменению терапии, что позволяет спасти жизни пациентов [1].

Одной из наиболее распространенных и динамично развивающихся диагностических технологий является ПЦР-анализ (полимерная цепная реакция) [2]. Метод ПЦР, обладающий высокой специфичностью, широко используется для решения научных задач, диагностики инфекционных заболеваний, для контроля качества продуктов питания и многого другого. Развитие и совершенствование методов ПЦР привело к появлению новых высокочувствительных и специфичных методов анализа – ПЦР в реальном времени, ПЦР с обратной транскрипцией, мультиплексной ПЦР. Среди очевидных преимуществ можно отметить высокую чувствительность и специфичность этого метода. Скорость и высокая производительность (возможность параллельного анализа большого количества образцов) являются другими особенностями ПЦР-анализа. Кроме того, для проведения ПЦР не требуется выделение и выращивание культуры возбудителя, что позволяет эконо-

## ПРОЕКТИРОВАНИЕ АВТОМАТИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА БАЗЕ ГОТОВОЙ РОБОТИЗИРОВАННОЙ ПЛАТФОРМЫ И ОТЕЧЕСТВЕННЫХ РЕАГЕНТОВ

мать время. Универсальность постановки проб ПЦР достигается благодаря возможности диагностировать несколько возбудителей из одной биологической пробы.

Во всем мире автоматизация лабораторных процессов является обязательным условием работы современных лабораторий. Сегодня инновационные технологии для подготовки проб к ПЦР и выделения нуклеиновых кислот доступны и в России.

Роботизированные станции подготовки проб позволяют автоматизировать наиболее трудоемкие, контаминационно-опасные и чувствительные к ошибкам оператора стадии ПЦР-анализа – выделение нуклеиновых кислот из клинического образца и подготовку реакционной смеси. Автоматизация этих процессов на настоящий момент широко востребована в лабораторной диагностике, т.к. :

- позволяет повысить производительность лаборатории,
- практически полностью исключить влияние человеческого фактора на чувствительную и дорогостоящую реакцию,
- значительно повышает воспроизводимость результатов исследования,
- исключает погрешности при мониторинге вирусной нагрузки и определении эффективности терапии.

Роботизированные станции защищают образцы от возможной контаминации, позволяют исключить ошибки, возникающие по причине человеческого фактора и иных обстоятельств, а также обеспечивают высокоточное дозирование и полную прослеживаемость процесса исследования.

Роботизированные станции подготовки проб позволяют автоматизировать наиболее трудоемкие, контаминационно-опасные и чувствительные к ошибкам оператора стадии ПЦР-анализа – выделение нуклеиновых кислот из клинического образца и подготовку реакционной смеси. Роботизированные станции делятся сегодня на два блока – открытые и закрытые системы. Открытые системы могут работать с любыми тест-системами (реагентами), в том числе отечественного производства. Закрытые системы совместимы только лишь с реагентами конкретного производителя. Среди закрытых систем можно выделить роботизированные платформы производства Siemens, Roche, Abbott. Несмотря на достаточно высокое качество роботизированных платформ, эти решения не позволяют использовать более дешевые реагенты. В условиях ограниченного финансирования закупка тест-систем зарубежного производства

не является возможным. Среди открытых систем с высокой производительностью лидируют компании Sias, Tecan и Hamilton. Основным преимуществом каждого из этих производителей является то, что станции совместимы с совершенно любыми реагентами, что позволяет снизить себестоимость исследования в лаборатории.

Перед нами поставлена задача проектировки типовой станции для автоматизации лабораторных процессов. Проектировка станции платформ должна быть сделана таким образом, чтобы автоматизированные системы были совместимы с реагентами российского производства. Это позволит снизить себестоимость анализа, повышая при этом качество самого исследования и воспроизводимость результатов исследования.

Для решения задачи проектировки актуальным является изучение детального устройства станции и принцип ее работы.

Типовая дозирующая станция имеет широкий выбор различных манипуляторов, в зависимости от выбранных дозирующих устройств и модулей переноса планшетов. Дозирующий манипулятор осуществляет движение в направлении x. Всегда, когда требуется более высокая пропускная способность, можно оборудовать систему двумя манипуляторами, которые будут работать одновременно. Существует и другое оборудование на основе каналов, которое может быть установлено на соответствующих манипуляторах.

Схематичный рисунок типовой дозирующей станции представлен на рисунке 1.

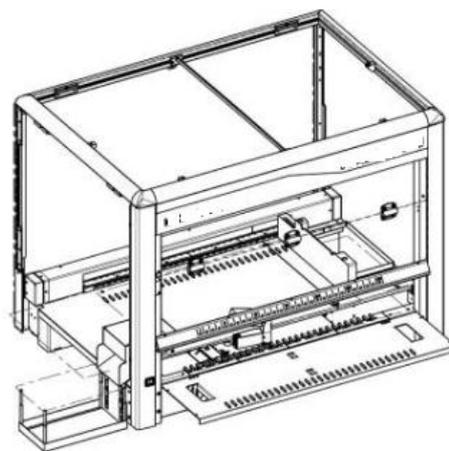


Рисунок 1 - Типовой вид дозирующей станции

Дополнительные средства определены в качестве компонентов или конфигураций, которые являются частью станции. Стандартные дополнительные средства следующие:

устройство ручной загрузки или автоматической загрузки, тип и количество дозирующих манипуляторов, количество дозирующих каналов от 1 до максимум 16 для каналов 1000 мкл или от 1 до максимум 8 для каналов 5 мл, дозирующее устройство с 96 каналами, дозирующее устройство с 384 каналами, устройство переноса планшетов, устройство переноса пробирок и канал визуализации.

Вспомогательные принадлежности включают в себя узлы, такие как установки промывки, штативы с регулируемой температурой, вакуумная система, штатив лабораторного оборудования и т.д.

Устройство переноса планшетов на базе поворотного манипулятора представляет собой роботизированный манипулятор, который транспортирует микропланшеты, крышки микропланшетов, планшеты для хранения, фильтровальные планшеты на и с позиций на платформе станции. Планшеты могут размещаться в горизонтальной или вертикальной плоскости или поворачиваться. С его помощью можно захватывать лабораторное оборудование с одного места и помещать его на любое место на или даже за пределами платформы. Выполнение стандартных задач по переносу, такие как загрузка/выгрузка планшетов, за пределами станции становится очень простым с устройством переноса планшетов на базе поворотного манипулятора. Устройство переноса планшетов на базе поворотного манипулятора также может сложить планшеты или наконечники в специально предусмотренные штативы.

Устройство захвата пробирок транспортирует пробирки на или с позиций на платформе станции. Устройство захвата пробирок устанавливается на отдельном канале. Оно может переносить пробирки диаметром от 8 мм до 20 мм и длиной до 120 мм.

Назначение канала визуализации – получение цифрового изображения из любого объекта, находящегося в пределах платформы станции. Камера с высоким разрешением на приборе с зарядовой связью фиксируется на отдельном канале и позволяет получать изображения с целевого объекта, который такого же размера, как формат SBS. Изображения передаются программному обеспечению, анализирующему изображения, а затем на дальнейшее исследование.

Устройство захвата представляет собой инструмент переноса, поднимаемый вверх двумя дозирующими каналами во время работы станции. Этот инструмент может использоваться только в том случае, если сис-

тема имеет как минимум два отдельных дозирующих канала.

Штатив с регулируемой температурой представляет собой устройство для нагрева и охлаждения микропланшетов. Он предназначен для работы в качестве ящика. Вместимость данного носителя составляет четыре позиции для микропланшетов. Заданная температура одна и та же для всех позиций.

Проектирование автоматической дозирующей станции основывается на задачах, которые эти станция призвана выполнять. В результате станция комплектуется необходимым количеством каналов, дополнительного оборудования, манипуляторов и т.д.

Конфигурация станции задается в редакторе конфигураций программного обеспечения. Множество возможных конфигураций роботизированной станции делает для простого лаборанта задачу ее проектировки сложной. Обязательно участие в проектировке станции должен принимать инженер по медицинской технике.

Проектировка дозирующей станции производится для автоматизации выделения нуклеиновых кислот. Выделение нуклеиновых кислот – один из необходимых этапов подготовки проб перед различными исследованиями крови в диагностических и научных лабораториях. Многие приложения, такие как амплификация, проведение обратной транскрипции, детектирование накопления продуктов амплификации методом ПЦР в реальном времени, клонирование, секвенс, гибридизация и т. д., не могут быть выполнены непосредственно на биологических образцах без предварительной очистки нуклеиновых кислот.

Нами проводился анализ нескольких методов пробоподготовки и выделения нуклеиновых кислот. Выявлено, что метод выделения нуклеиновых кислот на основе магнитной сепарации является сегодня удобным, технологичным и пригодным для подготовки образца к амплификации, его можно воспроизвести на автоматических дозирующих станциях.

Рассмотрены все комплектующие роботизированной станции, которые необходимы для автоматического выделения нуклеиновых кислот методом магнитной сепарации. Термошейкер является основой для проведения магнитной сепарации. На нем происходит нагревание и отделение нуклеиновых кислот от буферного раствора. Термошейкер предназначен для нагрева и / или встряхивания стандартных микротитрационных планшетов.

## ПРОЕКТИРОВАНИЕ АВТОМАТИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА БАЗЕ ГОТОВОЙ РОБОТИЗИРОВАННОЙ ПЛАТФОРМЫ И ОТЕЧЕСТВЕННЫХ РЕАГЕНТОВ

Кроме термошейкера, для автоматизации выделения нуклеиновых кислот базовый блок роботизированной станции должен быть оснащен дозирующими каналами объемом 1000 мкл, наборов штативов и адаптеров для контейнеров под реагенты, пробирки и планшеты, набором для ультрафиолетовой де-контаминации, станцией для слива отработанной жидкости и другим оборудованием.

Предлагается метод автоматизации выделения нуклеиновых кислот на базе готовой роботизированной платформы и отечественных реагентов.

Для реализации такой автоматизации рассматриваются принципы программирования роботизированной станции. Программное обеспечение автоматической дозирующей станции является интерфейсом, управляемым с помощью меню, который позволяет пользователю определять компоновки платформ и методы, а также запускать дозирующую станцию линии. Программное обеспечение позволяет пользователю программировать и запускать различные методы для аспирации и дозирования жидкостей, а также контролировать вспомогательные устройства, такие как установка промывки или вакуумная система.

Пользовательское программное обеспечение предлагает различные библиотеки стандартных этапов, такие как общие этапы, этапы дозирования. Также могут различаться и уровни программирования.

Рациональные этапы объединяют задачи. Например, совмещение всей задачи дозирования с копированием планшета, аликвотированием, объединением и т.д. Данные команды наилучшим образом подходят для начинающих в целях ознакомления с системой.

Простые этапы предназначены для дозирования и переноса планшета. Они предлагают широкий ряд настроек и возможностей для устранения ошибок, по сравнению с рациональными этапами. Иконки простых этапов имеют желтую подсветку.

Одиночные этапы используются при необходимости максимальной гибкости системы. Данные команды позволяют управлять даже самыми сложными задачами по дозированию и переносу планшета.

Помимо библиотеки стандартных этапов также имеются дополнительные библиотеки для профессионального программирования.

Каждый метод привязан к платформе системы, которая является пустой средой при открытии. Теперь программист должен опре-

делить реальную среду в программном обеспечении посредством добавления станции к платформе системы.

Решена задача автоматизации выделения нуклеиновых кислот при помощи отечественных реагентов.

На основе анализа комплектующих выбрана оптимальная комплектация станции для выделения нуклеиновых кислот. Такая комплектация позволяет проводить выделение нуклеиновых кислот при помощи реагентов российского производства. Комплектация приведена в таблице 1.

Вид расположения штативов на рабочем столе станции в программном обеспечении представлен на рисунке 2. Вид расположения лабораторных расходных материалов на рабочем столе станции в программном обеспечении представлен на рисунке 3.

Может быть проведен ввод в эксплуатацию автоматической дозирующей станции. Результатом такой инсталляции станет автоматизация процесса выделения нуклеиновых кислот, что в свою очередь позволит значительно повысить качество и сократить время проведения анализов. Представленная конфигурация станции позволит автоматизировать наиболее трудоемкие, контаминационно-опасные и чувствительные к ошибкам оператора стадии ПЦР-анализа – выделение нуклеиновых кислот из клинического образца и подготовку реакционной смеси. Автоматизация этих процессов на настоящий момент широко востребована в лабораторной диагностике, так как позволяет повысить производительность лаборатории; практически полностью исключает влияние человеческого фактора на чувствительную и дорогостоящую реакцию; значительно повышает воспроизводимость результатов ПЦР; исключает погрешности при мониторинге вирусной нагрузки и определении эффективности терапии.

Комплексное решение на основе представленной роботизированной платформы, в комбинации с тест-системами отечественного производства сочетает в себе низкую себестоимость автоматического выделения; высокое качество выделяемых нуклеиновых кислот. Разработанная система является системой открытого типа, что позволяет использовать большинство типов имеющихся на рынке расходных материалов. Конфигурация рабочего стола станции поддерживает использование всех наиболее часто используемых типов первичных пробирок с образцами и пробирок для выделения. При необходимости, станция может быть оперативно

настроена на работу с нестандартными типами лабораторного пластика и пробирок. Процесс экстракции полностью автоматизирован, дополнительное добавление реактивов или расходных материалов в процессе работы не требуется. Использование сканера

штрих-кодов, входящего в состав станции, позволяет интегрировать процесс пробоподготовки в лабораторную информационную систему (ЛИС) и отслеживать движение образцов.

Таблица 1 – Комплектация автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот при помощи реагентов российского производства

Наименование	Кол-во
Автоматическая дозирующая станция, 8 каналов объемом 1000 мкл	1
Камера для сканирования микропланшет	1
Модуль для сканирования штрих кодов пробирок	1
Платформа для загрузки	3
Станция для слива отработанной жидкости	1
Кронштейн для микропланшет	1
Термошейкер	1
Камера для сканирования пробирок	1
Штатив для сканирования пробирок	6
Штатив для сканирования пробирок	6
Адаптер для штативов с наконечниками	5
Штатив для 96 наконечников на 1000 мкл	5
Площадка для магнитной сепарации	1
Адаптер для микропланшет	5
Штатив для 32 микроцентрифужных пробирок	4
Штатив для использованных наконечников	2
Платформа высокой степени точности с отделом для использованных наконечников	1
Адаптер для 96-луночных микропланшет	1
Штатив для контейнеров с реагентами	1
Адаптер для термошейкера	1
Адаптер для хранения микропланшет	1

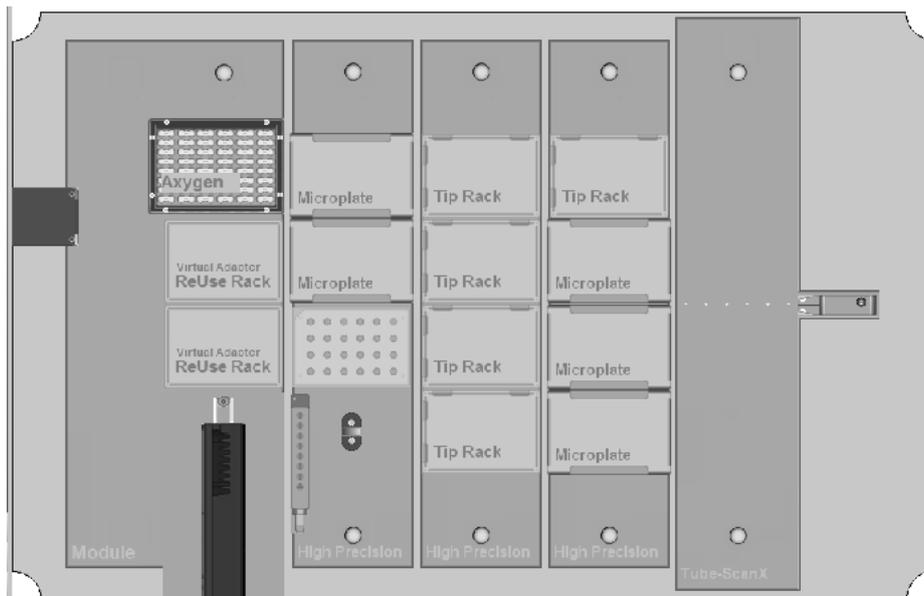


Рисунок 2 – Hardware-лэйаут станции для выделения нуклеиновых кислот

ПРОЕКТИРОВАНИЕ АВТОМАТИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ  
ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА БАЗЕ  
ГОТОВОЙ РОБОТИЗИРОВАННОЙ ПЛАТФОРМЫ  
И ОТЕЧЕСТВЕННЫХ РЕАГЕНТОВ

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Кишкун, А.А. Препятствия на пути к централизации клинических лабораторных исследований. – М., Менеджер здравоохранения 2014.-N11.-С.11-26.
2. Godfrey T., Norwood D., Shaad N. Real-time PCR: Emerging Application. На сайте www.bio.com, 2002
3. Фролова М.С., Толстухин И.А., Фролова Т.А. Автоматизация технологий IVD // Виртуальное моделирование, прототипирование и промышленный дизайн: материалы II международной научно-практической конференции. – Изд-во ФГБОУ ВПО «ТГТУ», 2016. – Вып. 2. –Т. II, С.275-280.
4. Фролова Т. А., Фролова М. С. Автоматизация лабораторных процессов //Виртуальное моделирование, прототипирование и промышленный дизайн: материалы III международной научно-практической конференции. – Изд-во ФГБОУ ВПО «ТГТУ», 2016. – Вып. 3. –Т. III, С.182-185.
5. Фролов С. В., Фролова М. С. Тенденции в производстве автоматических дозирующих станций // Виртуальное моделирование, прототипирование и промышленный дизайн: материалы III международной научно-практической конференции. – Изд-во ФГБОУ ВПО «ТГТУ», 2016. – Вып. 3. – Т. III, С.185-188.
6. Krieg P., Amtmann E., Sauer G. The Simultaneous Extraction of Highmolecular-Weight DNA and of RNA from Solid Tumours // Anal. Biochem. 1983. V. 134. P. 288–294.
7. Demeke T., Adams R.P. The Effects of Plant Polysaccharides and Buffer Additives on PCR // Biotechniques. 1992. V. 12. P. 332–334.
8. Hoorfar J., Cook N., Malorny B., et al. Making Internal Amplification Control Mandatory for Diagnostic PCR // J. Clin. Microbiol. 2003. V. 41. P. 5835.

**Фролов С.В.** – д.т.н., профессор, зав.каф. Биомедицинская техника, тел.: (4752) 635620, e-mail: sergej.frolov@gmail.com.  
**Фролова Т.А.** – к.т.н., доцент каф. Биомедицинская техника.